

BOLETIM DO SANATÓRIO SÃO LUCAS

INSTITUIÇÃO PARA O PROGRESSO DA CIRURGIA

Rua Pirapitingui, 114 — São Paulo, Brasil

VOL. XV

JUNHO DE 1954

N.º 12

Sumário:

	Pág.
<i>Físico-Química da permeabilidade das membranas celulares</i> — Prof. Dr. DIONYSIO DE KLOBUSITZKY	179
<i>Índice Geral do Volume XV</i>	191



Sanatório São Lucas

Boletim do Sanatório São Lucas

Suplemento de ANAIS PAULISTAS DE MEDICINA E CIRURGIA

Editado mensalmente pelo SANATÓRIO SÃO LUCAS
(Instituição para o progresso da Cirurgia)

sob a direção do:

Dr. ADHEMAR NOBRE

Rua Pirapitingul, 114 — São Paulo, Brasil



Orgão oficial da Sociedade Médica São Lucas

DIRETORIA 1954-1955



Presidente:

Dr. PAULO G. BRESSAN.

Vice-Presidente:

Dr. NELSON RODRIGUES NETO.

Primeiro Secretário:

Dr. JOÃO NOEL VON SONNLEITHNER.

Segundo Secretário:

Dr. JOÃO V. DELUCA.

Primeiro Tesoureiro:

Dr. LUIZ BRANCO RIBEIRO.

Segundo Tesoureiro:

Dr. MOACYR BOSCARDIN.

Bibliotecário:

Dr. SILVIO C. BOOCK.

Conselho Consultivo:

Dr. ADEMAR ALBANO RUSSI.

Dr. ADEMAR NOBRE.

Dr. JACIR QUADROS.

Dr. JOSÉ SALDANHA FARIA.

Dr. WALDEMAR MACHADO.

BOLETIM

DO

SANATÓRIO SÃO LUCAS

INSTITUIÇÃO PARA O PROGRESSO DA CIRURGIA

VOL. XV

JUNHO DE 1954

N.º 12

Físico-Química da permeabilidade das membranas celulares (*)

Prof. Dr. DIONYSIO DE KLOBUSITZKY

Querendo caracterisar a função da substância viva por uma peculiaridade geral, temos que partir do trabalho mais essencial que ela desenvolve, do trabalho mais estritamente ligado à concepção da vida. Sem dúvida alguma, esse trabalho é o metabolismo, o qual consiste na capacidade de forçar a entrada da matéria morta no seu organismo, conservá-la no mesmo até a sua presença é útil para aquela organização, e eliminá-la quando a sua permanência naquela organização não tem mais utilidade.

Sob o ponto de vista das ciências naturais exatas o metabolismo é uma expressão parcial do estado dinâmico da matéria viva, dirigida pelas leis da termodinâmica. Pelo termo "estado dinâmico" nós queremos fixar o conceito básico do metabolismo, o qual é manter a substância viva numa situação energética, isto é, numa posição em que ela seja capaz de desenvolver trabalho, seja capaz de distanciar-se do estado de equilíbrio, do estado de repouso. A regra geral válida para a matéria chamada morta, conforme a qual a capacidade de qualquer mecanismo parcial de realizar um trabalho qualquer está ligada a uma certa estrutura, através da qual manifesta-se o trabalho, tem validade para a matéria viva também. A estrutura da mesma está inseparavelmente ligada à sua função, como, inversamente, a função é a expressão dinâmica mantida pela estrutura.

Considerando como unidade da substância viva a célula, e transferindo para essa o que foi dito até agora, podemos afirmar que todas as realizações das células, quer visíveis, quer invisíveis,

(*) Conferência realizada na Sociedade Médica São Lucas, em 17 de maio de 1954.

baseiam-se em mudanças da sua estrutura. Pesquisas mais recentes, nas quais foram e ainda são estudadas o aproveitamento e transformação de moléculas contendo uma vez isótopos estáveis, outra vez radioativos, demonstram que a estrutura celular, mesmo no estado de equilíbrio dinâmico do repouso, modifica-se constantemente e que essa troca de moléculas realiza-se com uma velocidade muito alta; um comportamento que seria na mesma forma inimaginável sem uma estrutura celular dinâmica, como a capacidade de expressão do nosso rosto sem contrações musculares.

Para que uma substância possa entrar na célula ou possa sair da mesma é indispensável que ela passe através da membrana celular, ou com outras palavras, que essa membrana seja permeável para a mesma.

Ainda que, não há muito tempo, fôsse considerado como um erro muito grave falar sobre uma membrana das células animais, e mesmo hoje em dia há biólogos que negam a existência de tal membrana, por isso achamos não ser supérfluo apresentar, na forma de um curto resumo, os resultados experimentais mais convincentes que provam a existência da membrana celular.

Com o aperfeiçoamento da técnica de micromanipulação foi possível injetar diversas substâncias em células isoladas e assim comparar entre si os efeitos que uma substância determinada exerce sobre a célula quando a mesma acha-se dentro e quando acha-se fora da célula. Por meio dessa técnica CHAMBERS (1) conseguiu esclarecer porque sucumbem as amebas quando colocadas em solutos de KCl ou $NaCl$ e vivem em solutos de $CaCl_2$ ou $MgCl_2$. Ele injetava esses solutos dentro da ameba e o efeito dos sais foi o contrário. Assim ficou provado que aqueles cátions monovalentes são tóxicos somente para a membrana de células, enquanto que os bivalentes somente para o protoplasma celular. Mais tarde, ainda ele (2) verificou que muitas matérias corantes não podem penetrar nos óvulos da estrela-do-mar mas injetando-as diretamente naquelas células o protoplasma fica corado numa maneira uniforme sem que a matéria corante saísse da célula. Pelas experiências de POLLACK (3) ficou patente que o ácido pícrico destrói a membrana celular, enquanto que ele é inofensivo para o protoplasma. Corando esses mesmos óvulos com vermelho neutro e colocando-os posteriormente numa solução de $NaHCO_3$ a cor das células indica uma reação ácida do seu protoplasma. Injetando o mesmo soluto de bicarbonato dentro dos óvulos, o protoplasma torna-se amarelo provando que a sua reação virou para alcalina. Essa experiência prova que os iões de HCO_3 atravessam a membrana celular enquanto que os de Na não.

Todos esses fatos provam irrefutavelmente que a camada limítrofe das células têm uma composição diferente da do interior das células e das múltiplas funções da mesma podemos concluir que aquela corresponde a uma membrana. A espessura dessa membrana

é avaliada, sob a base de exames feitos pelo microscópio eletrônico em 10mp. [WOLPERS (4)].

As funções básicas da membrana celular são as seguintes :

- a) Retenção das substâncias necessárias para a vida da célula ;
- b) Dar passagem de fora para dentro às substâncias que a célula necessita ; e
- c) Dar passagem de dentro para fora aos produtos de metabolismo prejudiciais à célula.

Para poder cumprir essa tarefa a membrana possui uma permeabilidade, a qual, entretanto, não é uma peculiaridade estável, como, por exemplo, — para usar uma comparação rude — a duma peneira de aberturas uniformes. Ao contrário, a permeabilidade dessa membrana tem que variar conforme a necessidade da célula que ela protege ; é, pois, uma peculiaridade instável, uma circunstância que torna o seu estudo bastante enredado, exigindo a partir de considerações teóricas físico-químicas e a aplicar métodos desse ramo de ciência.

Os estudos de permeabilidade seguem quatro caminhos, porém a finalidade de todos é a mesma : estabelecer as suas regras e esclarecer o mecanismo que permite à camada variar a sua permeabilidade. Dos quatro grupos de caminho um quer chegar ao seu fim utilizando métodos empíricos, um através de experiências feitas em membranas artificiais, nas quais analisam as leis de difusão e de filtração ; uma outra direção de pesquisas ocupa-se com a estrutura da membrana por meio de microscópio eletrônico, e os que seguem o quarto caminho escolheram para os seus estudos células vegetais excepcionalmente grandes (as células de *Chara ceratophylla* podem atingir, por exemplo, até 4cms de comprimento, contendo 20mm³ de suco celular) e comparam os resultados nelas obtidos com os obtidos em modelos artificiais.

Seria, entretanto, falso imaginar que as direções de pesquisas determinadas por aqueles quatro caminhos trabalham paralela e independentemente, uma ao lado da outra. Ao contrário, os resultados obtidos por um princípio ficam controlados por observações colhidas através dum outro caminho. Só assim é possível obter idéias sobre a permeabilidade que, por um lado, correspondem à realidade, e, por outro lado, às leis dos fenômenos que regem a troca das substâncias dissolvidas fora de organizações vivas. Esses fenômenos são : a *osmose*, a *difusão*, a *filtração*, em parte nas suas formas puras, em parte nas suas formas modificadas por influências eletrocinéticas.

As pesquisas baseadas em princípios e concepções empíricas vinham demonstrar que realmente os mencionados fenômenos constituem as bases da permeabilidade da membrana celular.

A osmose, como se sabe, dá-se quando soluções de diversas concentrações moleculares acham-se separadas por uma membrana

a qual é transponível somente para o solvente. Chama-se por isso tais membranas semi-permeáveis. Visto que as moléculas dissolvidas exercem uma pressão idêntica àquela que os gases demonstram, uma chamada pressão osmótica, a diferença nas concentrações moleculares, *ceteris paribus*, nas pressões osmóticas — devido à impossibilidade da passagem das moléculas dissolvidas através da membrana separadora — ficam eliminadas pelo movimento do solvente, o qual é, no caso das células vivas, sempre água, de maneira que a água passa do lado de concentração mais baixa para o de concentração mais alta até que as pressões osmóticas sejam iguais em ambos os lados da membrana. Pesquisas de natureza cinética provaram que esse movimento é muito lento, a sua velocidade é aproximadamente uma centésima parte da velocidade com a qual a água atravessa a parede dos capilares e uma milésima parte da velocidade de passagem própria em solutos aquosos.

A esmagadora maioria dos estudos sobre a permeabilidade das células animais é feita em eritrócitos, visto que eles são de fácil obtenção e a variação dos seus volumes pode ser medida com suficiente exatidão. Essas determinações de volume são feitas ou pela centrifugação em hematócrito, ou através da quantidade de luz que o atravessa e a qual se amplia com o aumento do volume celular ou, ainda, medindo o grau de dispersão de luz na superfície dos mesmos.

Os numerosos estudos realizados em suspensões de eritrócitos demonstravam que a semipermeabilidade das suas membranas não é rígida como a da mais usada membrana semipermeável artificial, da membrana de ferrocianeto de cobre, $[Cu_2Fe(CN)_6]$, mas altamente seletiva. Querendo, portanto, só estudar o movimento de água é necessário escolher soluções de substâncias que não podem atravessar a membrana limítrofe das hemátias, usando-as em soluções hipertônicas.

A passagem das substâncias dissolvidas é — sob o ponto de vista da físico-química — um processo de difusão, sob o qual entendemos a tendência das substâncias dissolvidas de se espalharem no solvente na maneira que a sua concentração seja igual em qualquer ponto do volume.

A lei básica da difusão é a equação de Fick, conforme a qual a quantidade difundida depende do corte transversal da superfície de difusão, da diferença de concentração entre os dois pontos entre os quais a difusão realiza-se, do chamado gradiente de concentração, do período, e, finalmente, da qualidade da substância que se difunde. Essa última designa-se como coeficiente de difusão. Para explicar bem o sentido desse coeficiente apresentamos a equação de Fick, numa das suas formas mais comuns, a qual é:

$dn = k \cdot q \frac{dc}{ds} dt$, significando dn a quantidade difundida, k a constante de difusão, q o corte transversal, $\frac{dc}{ds}$ o gradiente de concentração entre dois cortes transversais entre os quais há 1cm de distância

e dt o período de difusão. Considerando q como 1cm^2 , $\frac{dc}{ds}$ como 1 (isto é a substância difunde no solvente puro) e dt como 1 segundo, k é o índice individual da velocidade de difusão. A regra geral para a difusão é que as substâncias de baixo peso molecular difundem mais rapidamente do que as de alto peso molecular. Por exemplo, a constante da uréia (peso mol.: 60) é de 93,8, a do açúcar de cana (peso mol.: 342) é de 39,9.

Para as células a equação de FICK tinha que ser modificada, visto que nesse caso trata-se de penetração num corpo geométrico e não dum movimento num corte transversal cilíndrico. As fórmulas apresentadas pelos diversos autores baseiam-se em diferentes raciocínios teóricos. A mais conhecida é a seguinte: $\frac{c_f - c_a}{c_f} = 2,718 - \frac{k \cdot q \cdot t}{V}$, sendo c_f , c_a concentrações da substância em questão fora e dentro da célula, q superfície, V volume da célula, k constante de difusão a qual chama-se nesse caso constante de permeabilidade. Entende-se sob isto o número das moléculas que entram na célula durante 1 seg. pela unidade de superfície caso a célula não contenha a substância em difusão (portanto o gradiente de concentração é igual ao 1). Tratando-se de moléculas grandes de modo que a proporção entre o diâmetro molecular e a espessura de membrana não é muito desigual, a fórmula é aproveitável. Para calcular a quantidade de água que possa entrar nas hemátias usa-se a relação seguinte: $k \cdot q \cdot t = k_1 \frac{1}{C^2}$, no qual k significa a constante de permeabilidade, k_1 uma constante das hemátias cujo valor depende da espécie da qual as mesmas foram tiradas, e C a concentração daquelas substâncias existentes no interior das hemátias as quais exercem uma pressão osmótica.

Falando dum modo geral sobre a aplicabilidade das equações físico-químicas de difusão para a troca das substâncias através das membranas celulares, temos que dizer que elas coincidem com os resultados experimentais enquanto que sejam usados aneletrolitos hidrosolúveis de peso molecular inferior a 140 (o peso molecular dos pentoses fica em redor de 150).

Para dar um exemplo de como se realizam experiências de difusão queremos citar os estudos de TRÖNDLE (5) sobre a penetração de alcalóides livres. Para simplificar as condições experimentais ele escolheu um cogumelo que contém no seu protoplasma ácido tânico o qual forma um precipitado bem perceptível sob o microscópio com os alcalóides livres. Dêsse modo o gradiente de concentração fica sempre igual à concentração existente fora da célula, de modo que o tempo necessário para formar o precipitado perceptível deve ser inversamente proporcional à concentração do alcalóide difundido.

Absolutamente não são aplicáveis as equações, mesmo em caso de aneletrolitos de baixo peso molecular, quando os mesmos são solúveis em óleo. Nesse caso a pura difusão fica modificada pela propriedade de solubilidade da respectiva substância. Essas substâncias dissolvem-se na membrana celular devido o qual a sua penetração na célula fica sobremodo facilitada. A combinação de dois princípios, denominados como regra de OVERTON e axioma de distribuição, dá-nos as regras dessa modalidade de permeação. A primeira diz que a capacidade de penetração de tais substâncias é tanto maior, quanto melhor é a sua solubilidade em óleos. A segunda, que é uma formulação mais precisa da primeira diz que o fator determinante é a relação entre solubilidade em óleo e solubilidade em água, o chamado coeficiente de separação. Quanto maior seja esse coeficiente, tanto mais rapidamente transpassa a substância a membrana celular. Nesses princípios empiricamente estabelecidos baseiam-se a teoria lipídica da permeabilidade, a teoria de narcose de MEYER e a da coloração vital.

Experiências de difusão nas quais foram utilizadas substâncias de iguais coeficientes de separação (por exemplo, metil uréia e glicerina), executadas principalmente por COLLANDER e BÄRLUND (6), demonstravam que a velocidade de penetração depende — em casos de certas células — do volume molecular dessas substâncias também. Essa circunstância só pode ser esclarecida pela suposição de que a membrana celular funciona ainda como um ultrafiltro. Resultados de experiências nas quais estudava-se a penetração de 45 substâncias cujos pesos moleculares variavam entre 30 e 340 demonstravam que nesse respeito as células podem ser divididas em dois grandes tipos. Num tipo a permeabilidade de membrana celular é determinada em primeiro lugar pelo coeficiente de separação, e no outro pela sua porosidade. As células nervosas são os representantes clássicos do primeiro tipo, as hemátias dos teleósteos, as bactérias de enxofre, *Beggiatoa mirabilis*, os do segundo tipo.

Transpassando a restrição até agora observada de nos ocupar somente dos aneletrolitos, chegamos às modificações dos processos de permeabilidade provocadas pelos fenômenos eletrostáticos e eletrocinéticos.

Antes de nos ocuparmos com esses fenômenos modificadores, achamos conveniente — para evitar repetições — dar um resumo dos resultados dos estudos sobre a penetração dos eletrólitos nas diversas células.

Quanto às células vegetais podemos dizer que elas são, num modo geral, impermeáveis para os sais inorgânicos. Os dados do quadro abaixo testemunham na melhor forma essa impermeabilidade a qual resulta numa independência do "milieu intérieur" do "milieu extérieur" para usar os termos pregados por CLAUDE BERNARD.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SUCOS CELULARES
E DOS MEIOS DAS RESPECTIVAS CÉLULAS

(Segundo OSTERHOUT, COOPER, BLINKS, JAKES, COLLANDER, ZSCHIELE (7))

	Célula de <i>Halicystis</i>	Meio, água de mar	Célula de <i>Nitella cla- rata</i>	Meio, água de lago	Célula de <i>Chara cera- tophylla</i>	Meio, água de salobra
Concentração molecular em 1 000 litros de líquido						
<i>Cl</i>	603,0	580,0	90,8	0,903	225,0	73,0
<i>Na</i>	557,0	498,0	10,0	0,217	142,0	60,0
<i>K</i>	6,4	12,0	54,3	0,051	88,0	1,4
<i>Ca</i>	8,0	12,0	10,2	0,775	5,3	1,8
<i>Mg</i>	16,7	57,0	17,7	1,69	15,5	6,5
<i>SO₄</i>	traços	36,0	8,33	0,323	3,9	2,8

Entre as células animais os glóbulos vermelhos ocupam, sob o ponto de vista de permeabilidade, um lugar especial, visto que êles, com exceção dos sais de amônio, auferem uma permeabilidade seletiva para os aniões inorgânicos monovalentes e uma impermeabilidade, quase rígida, para os mesmos catiões, quando os sais são de concentração isotônica. Os solutos isotônicos de amônio penetram nas hemátias em velocidade decrescente: $Cl > Br > NO_3 > SO_4 > PO_4$, e, ao mesmo tempo, causam uma troca de iões de OH da célula com os de NH_3 do líquido externo, troca essa que hemolisa os eritrócitos.

Quanto aos catiões queremos só lembrar que os glóbulos vermelhos contêm sódio e potássio em quantidades bem diferentes das respectivas quantidades existentes no plasma. Essa circunstância é devida a uma permeabilidade seletiva da membrana limítrofe dessas células, a qual, entretanto, é fácil de suprimir. Já uma ligeira hiper— ou hipotonia do meio, um repouso de algumas horas em solução de *Ringer* ou um aumento da temperatura causam saída do catião de *K* das células; fatos que significam que a estrutura da membrana deve ser instável. Sendo assim, não podemos ficar admirados de que certas substâncias, conhecidas como citolíticas (sulfonatos de naftona, sulfato de cetila, ácidos graxos não saturados, etc.), e o fluoreto de sódio já em concentrações muito baixas provocam uma evasão de *K* das hemátias.

Os sais de sódio dos ácidos graxos alifáticos são indiferentes quando a cadeia dos mesmos contém menos que 5 átomos de *C* e os solutos têm o *pH* do sangue. Valerianato (*C₅*), capronato (*C₆*) de sódio já causam uma leve hemólise, a capacidade hemolisadora desses sais cresce com o comprimento da cadeia dos átomos de *C*.

Os sais de amônio comportam-se na mesma maneira, porém já o acetato de amônio (*C₂*) é capaz de causar hemólise.

Além das hemátias, em primeiro lugar, óvulos de peixes, fibras musculares e fibras nervosas foram objetos de experiências de penetração, as duas últimas na suposição de que o tecido conjuntivo que as envolve se comporta como si fôsse membrana celular. Como regra geral foi verificado que

- a) Os óvulos de peixes são impermeáveis para os sais inorgânicos de amônio, enquanto que para os sais dos ácidos graxos de cadeias curtas não os são;
- b) que as fibras mencionadas são impermeáveis para o K , regularmente permeáveis para o Na e muito permeáveis para o Cl ;
- c) que a permeabilidade depende do pH do suco interfibrilar, aumentando a sua acidêz as fibras deixam passar o K também e a facilidade com a qual essa passagem se realiza depende do grau da acidêz, de modo que o estado de equilíbrio entre o protoplasma de músculo ou de nervo e o suco interfibrilar pode ser caracterizado pela relação: $\frac{H_f}{H_d} = \frac{K_f}{K_d}$.

Como, sob condições fisiológicas K_d é muito maior do que K_f , variando correspondentemente a relação $\frac{H_f}{H_d}$ e aumentando, ao mesmo tempo a concentração de K_f podemos obter uma entrada de K de fora para dentro, mesmo contra o gradiente de concentração.

Vejamos agora, quais são os fenômenos eletrostáticos e eletrocinéticos que podem explicar-nos os fatos relatados.

Com poucas palavras, aquêles fenômenos são provocados pela própria membrana celular e o reconhecimento disso teve como ponto de partida uma observação de WILHELM OSTWALD, quem num dos seus trabalhos de incontestável valor, publicado em 1890, chamou a atenção sobre o seguinte fato: quando dois eletrólitos acham-se separados por uma membrana permeável para todos os iões e juntamos a um lado da membrana uma substância a qual não é capaz de passá-la, a distribuição dos iões de fácil permeação torna-se desproporcionada.

Essa observação ficou esquecida, mesmo pelo próprio OSTWALD, durante mais de 20 anos, entrando em foco de interesse somente em 1911 através das publicações de DONNAN e HARRIS sobre a diálise do vermelho congo. Essa matéria corante "quase" coloidal (o seu peso molecular é de 696) foi dialisada uma vez dissolvida em $NaCl$ contra água destilada e outra vez dissolvida em água destilada contra solução de $NaCl$. Os pesquisadores verificavam que a concentração de sal, após ter atingido o equilíbrio, estava mais baixa dentro do saco dialisador do que fora dêste. Este fenômeno, o qual consiste numa distribuição desigual dos iões de livre permeação

quando num lado da membrana acha-se um ião que não pode passar a mesma, portanto num equilíbrio anômalo, chamamos hoje *equilíbrio de Donnan*.

Os resultados experimentais despertaram grande interesse, visto que a existência desse equilíbrio foi provada teoricamente também, e, ainda, por dois raciocínios diferentes, por considerações cinéticas e termodinâmicas. Achamos, porém, mais conveniente em vez de apresentar aquelas bases teóricas, fixar bem claro as consequências mais importantes da distribuição desigual dos iões de livre passagem nos dois lados duma membrana nas condições acima mencionadas, as quais são:

- a) O aparecimento duma diferença de potencial elétrico, cujo valor é - para 18°C - dado pela relação: $\varepsilon = 0,0508 \cdot \log \left(1 + \frac{c_1}{c_2} \right)$ volt, sendo c_1 a concentração no lado onde existe o ião que não pode atravessar a membrana. Esse potencial elétrico chama-se *potencial de membrana* ou *potencial de Donnan*;
- b) O aparecimento duma pressão osmótica, a qual age na direção daquele ião, que não pode atravessar a membrana;
- c) Em casos especiais o aparecimento da chamada *hidrólise de membrana*. Esse ocorre quando num lado da membrana existe um ião não permeável e no outro lado água. Nesse caso o contra-ião só pode atravessar a membrana em companhia daquele produto de dissociação eletrolítica de água o qual possui uma carga oposta à sua própria carga. A passagem, portanto, pode ser realizada por conta dos iões de H ou OH de água e para que tais estejam presentes a membrana força a água de dissociar-se. O esquema abaixo esclarece a situação:

Estado inicial	Estado final
$\begin{array}{c c} C^+ & H_2O \\ P^- & \end{array}$	$\begin{array}{c c} C^+ & C^+ \\ H^+ & OH^- \\ P^- & \end{array}$

O permeável catião C^+ , como se vê, só podia chegar para o lado oposto da membrana acompanhado por iões de OH^- .

Além da diferença de potencial, originada pelo *equilíbrio de Donnan*, existem ainda correntes elétricas, por um lado, entre a membrana e o líquido intercelular, e, por outro lado, entre a membrana e o protoplasma celular.

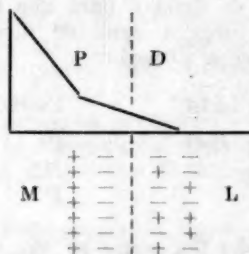
Uma dessas correntes é causada pela distribuição desigual dos iões em certa distância da membrana. Na superfície da membrana, devido à força eletrostática da mesma, forma-se uma camada cons-

tituída de iões de carga oposta à carga da membrana (as membranas biológicas possuem — quase sem exceção — uma carga negativa), os quais, por atração tornam a agrupar ao seu redor uma camada de iões de carga oposta. Nas camadas mais distantes da membrana a sua força eletrostática já não é capaz de atuar, já não é bastante para impedir o livre movimento dos iões, de modo que eles formam camadas mistas. Na superfície de contacto daquela camada, por assim dizer, homogênea, com a segunda heterogênea, origina-se uma diferença de potencial, cujo valor é determinado pelos fenômenos eletrocinéticos lá reinantes. Por isso chama-se êsse potencial *potencial eletrocinético*, *potencial de adsorção*, ou, como o seu símbolo é ζ , ζ potencial também. Como a determinação direta dêsse potencial não é possível, calcula-se o mesmo partindo de determinações indiretas. Esse potencial, até certo ponto, age contra o potencial de membrana, contra o chamado ϵ potencial.

A desigualdade na velocidade de migração dos catiões tem como consequência, no caso de que em ambos os lados da membrana existam os mesmos iões, uma outra diferença de potencial, que nós chamamos *potencial de difusão*. A grandeza dêsse potencial (E_d) é dada pela equação:

$$E_d = \frac{u_1 - v_1}{u_1 + v_1} \cdot \theta \log \frac{c_1}{c_2},$$

sendo u = velocidade de migração do catião, v = velocidade de migração do ânion, $\frac{c_1}{c_2}$ = a diferença de concentração ao início e ao fim da difusão, θ = constante característica para a temperatura (p. 18° C. θ é de 0,0577).



D = divisão entre camadas homogênea e heterogênea; P = curva do potencial; M = membrana; L = líquido intercelular (Cf. GOUY e STERN).

Como se vê da relação, em casos nos quais a diferença de migração entre o catião e ânion é grande, a diferença de potencial fica grande também.

Potenciais de difusão aparecem quando os líquidos de duas camadas limítrofes são misturáveis. As membranas celulares con-

têm, entretanto, além da água ainda lipóides, de modo que na mesma e na sua superfície há um contacto de dois líquidos entre si não miscíveis. O contacto de tais fases — quando encontram-se mesmos iões em ambas as fases — provoca a formação de potenciais, dos chamados potenciais de fases limítrofes; a diferença entre os dois, o denominado π potencial é igual: $\vartheta \cdot \log. \text{nat.} \cdot \frac{c_a}{c_b} \cdot C$, na qual ϑ é uma constante cujo valor depende da temperatura, $\frac{c_a}{c_b}$ significa a relação entre o mesmo ião nas duas fases, e C é uma constante característica do respectivo ião.

Conforme a mais moderna concepção, baseada principalmente nas pesquisas experimentadas de MEYER (8) e TEORELL (9), considera-se a membrana celular como um arcabouço polivalente, o qual pode funcionar, segundo o seu pH , do mesmo modo como catião, como anião. Nas malhas desse arcabouço há grupos de $COOH$ e de NH_2 , uma vez somente um desses; outra vez ambos ao mesmo tempo e a permeabilidade da membrana para os catiões e aniões depende daqueles grupos. Comporta-se o arcabouço de membrana como ácido, ele dissocia iões de H , tornando assim mais fácil a permeação dos catiões, caso contrário, a penetração fica facilitada para os aniões. Levando em consideração quasi todos os fatores que influem na permeabilidade da membrana celular, a mesma pode ser expressa matematicamente pela equação seguinte:

$$\frac{n_c}{n_a} = \frac{V_c}{V_a} \cdot \frac{\sqrt{4C^2 + \frac{S^2}{d_c \cdot d_a}} + \frac{S}{\sqrt{d_c \cdot d_a}}}{\sqrt{4C^2 + \frac{S^2}{d_c \cdot d_a}} - \frac{S}{\sqrt{d_c \cdot d_a}}}$$

sendo $\frac{n_c}{n_a}$ = relação dos algarismos de migração (*algarismos de Hittorf*) dos catiões (n_c) e dos aniões (n_a); $\frac{V_c}{V_a}$ = relação das velocidades de migração dos catiões (V_c) e dos aniões (V_a); C = concentração dos iões no líquido intercelular; S = concentração dos grupos ionizados na membrana (a chamada constante de seletividade de Meyer); d_c, d_a = respectivos coeficientes de distribuição dos catiões e dos aniões na membrana.

Nessa fórmula foram levadas em consideração a difusão (por meio de velocidade de migração), a solubilidade dos iões em lipóides (pelas constantes de distribuição), o equilíbrio e o potencial de Donnan (através do fator S).

Quando a membrana é eletricamente neutra, isto é, o seu pH corresponde ao ponto isoeletrico, S fica igual ao 0, portanto a relação dos algarismos de Hittorf $\left(\frac{n_c}{n_a}\right)$ nos dá a relação das quanti-

dades dos iões que atravessaram a membrana, portanto nesse caso todo o problema de permeabilidade fica reduzido a um processo normal de difusão.

Como membranas artificiais para estudos de permeabilidade usam-se mais freqüentemente filmes de colódio, visto que desse material podem ser preparadas membranas bastante finas e de porosidade muito variável (com poros de 50 até 500m μ de diâmetro). Essas membranas são, quando dessecadas, permeáveis para os catiões e impermeáveis para os aniões, portanto sua permeabilidade é oposta à dos eritrócitos. Embebendo essa membrana com uma matéria corante de caráter básico, a sua permeabilidade torna-se semelhante à dos eritrócitos. Para não abusar mais a paciência dos meus distintos amigos e colegas deixo de relatar pormenores referentes aos inúmeros estudos nos quais foram utilizadas tais membranas, restringindo-me a sublinhar que muitos desses estudos contribuíram sobremaneira para a compreensão do fenômeno de permeabilidade das membranas celulares, o qual é um problema complexo, subordinado, em parte, às leis físico-químicas, em parte, aos acontecimentos biológicos desenrolados no próprio protoplasma celular.

BIBLIOGRAFIA

- (1) CHAMBERS, R. & cols.: *J. gen. Physiol.*, **8**: 369 (1926).
- (2) CHAMBERS, R.: *Biol. Bull.*, **55**: 369 (1928).
- (3) POLLACK, H.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **25**: 145 (1927).
- (4) WOLFERS, C.: *Die Naturwiss.*, **29**: 461 (1941).
- (5) TRÖNDLE, A.: *Biochem. Zschr.*, **112**: 259 (1920).
- (6) COLLANDER, R. & BÄRLUND, H.: *Acta Bot. Fenn.*, vol. 11 (1933).
- (7) Cit. seg. HÖBER, R.: *Physik. Chem. d. Zelle u. Gewebe*, ed.: Stumpli & Cie., Berna, 1947.
- (8) MEYER, K. H.: *Helv. Chim. Acta*, **20**: 634 (1937).
- (9) TEORELL, T.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **33**: 282 (1935).